



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2002-0018844
Application Number

REC'D 28 APR 2003

WIPO PCT

출원 년 월 일 : 2002년 04월 08일
Date of Application APR 08, 2002

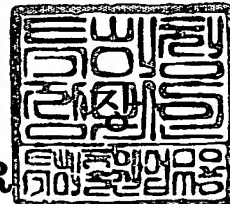
출원인 : 김동현
Applicant(s) KIM DONG HYUN



2003 년 04 월 08 일

특 허 청

COMMISSIONER



PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0005
【제출일자】	2002.04.08
【발명의 명칭】	약효가 증가된 특수가공처리 인삼 추출물을 함유하는 뇌졸 중의 예방 및 치료를 위한 조성물
【발명의 영문명칭】	COMPOSITION CONTAINING AN EXTRACT OF SPECIALLY TREATED GINSENG FOR PREVENTING BRAIN CELLS AND TREATING BRAIN STROKE
【출원인】	
【성명】	김동현
【출원인코드】	4-1998-032388-9
【대리인】	
【성명】	이현실
【대리인코드】	9-1999-000366-5
【포괄위임등록번호】	2002-027227-5
【대리인】	
【성명】	장성구
【대리인코드】	9-1998-000514-8
【포괄위임등록번호】	2002-027225-1
【발명자】	
【성명】	김동현
【출원인코드】	4-1998-032388-9
【발명자】	
【성명】	류종훈
【출원인코드】	4-2000-002431-2
【발명자】	
【성명의 국문표기】	배은아
【성명의 영문표기】	BAE, Eun Ah
【주민등록번호】	710221-2079514

【우편번호】	138-240
【주소】	서울특별시 송파구 신천동 장미아파트 3차 2-705
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	한명주
【성명의 영문표기】	HAN, Myung Joo
【주민등록번호】	590220-2011216
【우편번호】	135-110
【주소】	서울특별시 강남구 압구정동 456 현대아파트 81-105
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	추민경
【성명의 영문표기】	CH00, Min-Kyung
【주민등록번호】	760407-2025910
【우편번호】	137-064
【주소】	서울특별시 서초구 방배4동 858-33
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박은경
【성명의 영문표기】	PARK, Eun-Kyung
【주민등록번호】	750611-2665813
【우편번호】	135-231
【주소】	서울특별시 강남구 일원1동 도시개발아파트 109-1012
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이현실 (인) 대리인 장성구 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	5 면 5,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	8 항 365,000 원

0020018844

출력 일자: 2003/4/15

【합계】	399,000 원
【감면사유】	개인 (70%감면)
【감면후 수수료】	119,700 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 약효가 증강된 특수 가공처리시킨 인삼 추출물을 함유한 뇌졸중 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 조성물은 다양한 뇌신경계의 손상으로 인한 뇌졸중과 같은 뇌손상을 받고 있는 현대인들의 뇌세포를 보호하는 효과를 갖는 약제 및 건강보조식품에 이용할 수 있다.

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

약효가 증가된 특수가공처리 인삼 추출물을 함유하는 뇌졸중의 예방 및 치료를 위한 조성물{COMPOSITION CONTAINING AN EXTRACT OF SPECIALLY TREATED GINSENG FOR PREVENTING BRAIN CELLS AND TREATING BRAIN STROKE}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 각종 인삼 가공추출물들의 뇌허혈에 대한 효과를 실험한 도면이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <> 본 발명은 뇌졸중 예방 및 치료에 효과적인 가공처리된 인삼 추출물을 함유한 조성물에 관한 것이다.
- <> 뇌졸중은 크게 2가지로 나누는데, 뇌조직으로 가는 혈액 공급의 감소 혹은 차단으로 뇌조직의 허혈상태로 발생하는 허혈성 뇌졸중 (ischemic stroke)과 혈관이 터져 뇌조직으로 출혈을 일으키는 출혈성 뇌졸중 (hemorrhagic stroke)으로 구분하고 있으며, 허혈성 뇌졸중이 전체 뇌졸중 환자의 약 80% 정도를 차지하므로 허혈성 뇌졸중이 심각한 질환이라고 할 수 있다. 최근 신경계는 비면역성 기관(immune privileged organ)이라는 기존의 학설과는 달리 다발성 경화증(multiple sclerosis), 외상, 알츠하이머 질환

(Alzheimer's disease), 뇌허혈 및 각종 뇌손상 등의 신경 질환시에 중추신경계 내에서도 염증반응이 나타나며 이는 신경퇴행을 야기하는 주요 원인 중의 하나임이 보고되고 있다.

- <4> 뇌졸중으로 발생하는 뇌신경 세포 손상의 원인이 과도한 흥분성 신경 전달 물질의 유리, 자유 라디칼(free radical)의 생성, 단백질 합성의 저해, 유전자 발현 이상 및 면역반응의 활성화 등으로 설명될 수 있으나, 아직까지 뇌신경세포 손상기전의 복잡성 등으로 뇌졸중으로 발생하는 뇌신경세포의 손상을 보호해 줄 수 있는 치료제가 개발되어 있지 못한 실정이다.
- <5> 뇌허혈에서 시클로옥시게나아제-2 (COX-2)의 억제제는 PGE₂의 생성 억제 및 이로 인한 글루타메이트의 유리억제로 뇌신경세포 보호작용을 가진다고 보고하면서, 관절염이나 통증을 호소하는 많은 사람들이 이미 COX-2 억제제들을 복용하고 있기 때문에 이러한 환자들에 있어서 뇌졸중 발병률 등에 대한 역학적 조사가 이루어진다면 향후 뇌졸중의 예방 및 치료제의 개발에 새로운 목표가 될 수 있을 것으로 보고하고 있어 관심을 유도하고 있다[이아데콜라 등의 문헌 (Iadecola, C. et al., *PNAS.*, 30 p1294-1299, 2001) 참조].
- <6> 한편, 중추신경계 내에서도 염증반응이 나타나며 이는 신경퇴행을 야기하는 주요 원인중의 하나임이 보고되고 있어, 뇌허혈 후의 염증 반응은 새로운 뇌허혈 치료제의 목표가 될 것으로 보이며, 이러한 치료제는 세포 독성 물질들의 유리에 관여하는 효소들을 억제하거나, 호중구(neutrophil)의 침착을 억제하는 약물들로 구성될 것으로 사료된다 [디르나글 등의 문헌(Dirnagl, U. et al; *TINS.*, 22, pp391-397, 1999)].

<7> 아울러 뇌조직으로 침투된 호중구에서 NO를 유리할 수 있는 iNOS(inducible nitric oxide synthase)가 유도되며, 유도된 iNOS로부터 NO가 유리되어 뇌세포 손상을 초래한다고 알려져 있으며, 글루타메이트에 의한 NMDA 수용체의 활성화에 의한 신경독성 또한 NO를 경유한 것이라고 보고되어 있어 iNOS 발현 억제 등과 관련된 뇌신경 보호제의 개발이 기대되고 있다(Vaughan CJ, Delanty N., Stroke 30:1969-73, 1999).

<8> 인삼은 식물 분류학상 오가과 인삼속에 속하는 다년생 숙근초로서 지구상에 약 11종이 알려져 있으며, 대표적인 종으로 (1) 고려 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 아시아 극동 지역(북위 33 ~ 48°: 한국, 북만주, 러시아 일부)에 자생하고 약효가 매우 우수하며, (2) 미국인삼(*Panax quinquefolium* L.)은 미국, 캐나다에 자생 및 재배하며, (3) 전칠삼(*Panax notoginseng* F.H.Chen)은 중국 운남성 동남부로부터 광서성 서남부 지역에서 야생 또는 재배하며, (4) 죽절인삼(*Panax japonicus* C.A. Meyer)은 일본, 중국 서남부, 네팔에 이르기까지 분포하는 것으로 알려져 있다(和漢藥百科圖鑑, 1권 1-8쪽, 남바즈네히끼, 호이꾸사, 1980년).

<9> 인삼은 신농본초경에 상품으로 수재되어 있을 뿐만 아니라 예로부터 귀중한 보약으로 사용되어오고 있다. 지금까지 많은 약리실험을 통해 인삼은 스트레스에 대한 생체의 비특이적 저항성을 강화시키고 항산화 작용을 갖고 있음이 밝혀졌다. 그 외에 고혈압의 개선, 인슐린 작용증강, 알록산(alloxan) 당뇨마우스에서의 혈당강하효과, 흰쥐의 간 RNA 합성, 단백질 합성, 당 및 지질대사 촉진효과, 항암효과 등이 있음이 밝혀졌다.

<10> 시중에 시판되고 있는 인삼 제품은 재배하여 채취한 그대로인 수삼, 이 수삼을 상온에서 건조시킨 백삼, 또는 수삼을 98-100℃에서 가열 처리하여 제조되는 홍삼의 형태로 나누어져 있다. 또한 인삼을 조직 배양하여 사용하려는 시도도 이루어지고 있다. 그

러나 이는 원래의 인삼과는 성분이 상당히 다르며 조직 배양이라는 과정을 거쳐야 하기 때문에 공정도 번거롭고 비경제적이라고 할 수 있다.

- <11> 상기 인삼은 주로 한국, 중국, 일본 등의 아시아 국가에서 생약의 형태로 정신 의학적 질병, 신경계의 질병 및 당뇨병 등 여러 가지 질병에 대해 사용되어 왔으며, 상기 인삼의 주요 성분인 사포닌은 강장, 강정, 진정, 조혈 및 항고혈압 등에 효과를 보이는 것으로 알려져 있다.(和漢藥百科圖鑑, 1권 1-8쪽, 남바쯔네히끼, 호이꾸사, 1980년)
- <12> 또한 대한민국 특허공개 제1997-00239호 (1997년 1월 21일)에는 약효가 증강된 가공인삼을 제조하기 위하여 인삼을 120-180 ℃에서 처리하여 종전 인삼과는 달리 진세노시드(ginsenoside) Rg3와 Rg5가 다량 함유된 인삼 조성물의 제조방법이 개시되어 있다.
- <13> 상술한 바와 같이 종래기술은 인삼을 산처리 또는 열처리하여 저분자화된 인삼조성물 또는 진세노시드 Rg3과 Rg5가 다량 함유된 인삼을 제조하는 방법에 불과하다. 그러므로 특정한 사포닌의 대사산물을 다량 얻기 위한 방법으로는 한계가 있다.
- <14> 한편, 대한민국 특허공개 제1997-061909호(1997, 9. 12)에서는 인삼사포닌 및 장내세균 대사물 및 이를 유효성분으로 하는 제조방법에는 장내세균을 이용하여 인삼의 사포닌을 이용하여 화합물 K를 중심으로 한 대사체들을 대량 생산할 수 있는 제조방법을 개시하고 있다.
- <15> 대한민국 특허공고 제1982-00919호 (유산균 인삼음료의 제조방법)(1980, 11, 08)에서는 인삼의 고유 향기 성분을 분리하고 효소 분해하여 유기 질소 농도가 0.2 ~ 0.8%, 포도당의 생성 함유량이 유산균 발효에 적합한 3% 이상이 되었을 때, 유기산으로 pH 3.8

~ 4.8로 조절한 후, 불용성 고분자 단백질과 섬유질을 제거하고 용출액에 유산균을 배양시킨 다음, 이에 인삼 고유의 향기 성분을 첨가하는 방법이 개시되어 있다.

<16> 대한민국 특허공개 제1990-04275호(인삼을 이용한 활성 유산균 음료수 제조방법)(1990,04,12)에는 인삼을 처리한 생즙이나 엑기스에 또는 인삼을 증자 처리하거나 증자 처리된 이화물에 효소를 작용시키고 이어서 유산균을 배양시킨 후 탈지 우유, 탈지 분유, 탄산수, 비타민류를 첨가 혼합하여 영양가가 높은 인삼 유산균의 탄산수성 음료수와 빙과류를 제조하는 방법이 개시되어 있다.

<17> 대한민국 특허공개 제1998-00073호(1998,03.30)의 인삼 또는 수삼을 함유하는 발효유 조성물 및 그 제조 방법에는 마쇄시켜 0.1 ~ 0.6 cm 미립상으로 형성시킨 인삼 또는 수삼을 0.001 ~ 2.39 중량% 첨가하는 공정 및 추가로 물, 비타민, 당류, 유기산류, 과일류, 곡류, 채소류로 구성된 군으로부터 선택된 1종 또는 2종 이상의 성분을 첨가하는 공정을 포함하는 인삼 또는 수삼을 함유하는 발효유 조성물의 제조 방법이 개시되어 있다.

<18> 상술한 바와 같이 종래의 인삼이 함유된 조성물들은 기존의 발효유 혹은 유산균 음료 등에 인삼 향기 성분을 추가하거나 인삼 가루 등을 추가함으로써 인삼 성분이 가미된 조성물을 얻을 수 있었다.

<19> 그러나, 상기 문헌의 어디에도 인삼 함유 조성물이 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료에 효과적일 수 있다는 어떠한 개시나 교시도 기재되어 있지 않다.

<20> 본 발명자는 산처리 및 유산균처리와 같은 특수처리를 통하여 제조된 인삼 추출물이 뇌졸중의 예방 및 치료에 효과적임을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<21> 본 발명의 목적은 특수 가공처리된 인삼추출물을 함유하는 뇌세포 보호 및 뇌졸중의 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<22> 상기 목적에 따라, 본 발명은 인삼을 추출한 액 또는 산처리하여 가열하여 얻어진 추출액에 유산균 또는 장내세균을 연속 처리함을 특징으로 하는 특수 가공 처리된 인삼 추출물을 유효성분으로 하는 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

<23> 또한 본 발명은 상기 가공 처리된 인삼으로부터 분리된 사포닌 분획물을 유효성분으로 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

<24> 또한 본 발명은 하는 상기 가공 처리된 인삼으로부터 분리된 사포닌 유도체를 유효성분으로 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

<25> 또한 본 발명은 파낙시트리올, 파낙시돌, 파낙시놀, 진세노시드 Rc, 진세노시드 Rb1, Rb2, 화합물 K, 20(R)-진세노시드 Rh2, 20(R)-프로토파낙사디올, 20(S)-진세노시드 Rh2, 20(S)-프로토파낙사디올, 20(S)-진세노시드 Rh1, 20(S)-프로토파낙사트리올로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 그룹으로 구성되는 사포닌 유도체를 유효성분으로 하는 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료용 조성물을 제공한다.

- <26> 본 발명의 뇌세포 보호 및 뇌졸중의 예방 및 치료를 위한 조성물은, 상기 인삼 추출물을 조성물 총 중량에 대하여 0.02 ~ 90 중량%로 포함한다.
- <27> 본 발명의 특수 가공 처리된 인삼 추출물은 제조공정은 하기와 같다.
- <28> (1) 추출과정
- <29> 건조상태의 인삼 원재료에 약 1 내지 50배 중량/부피의 물 또는 알콜로 20 내지 80℃, 바람직하게는 30 내지 60℃의 배양온도에서, 1시간 내지 2일간 바람직하게는 3시간 추출한다.
- <30> (2) 산처리 공정
- <31> 건조상태의 인삼 원재료에 약 1 내지 50배 중량/부피의 0.01 내지 50%, 바람직하게는 0.1 내지 10%의 산성분, 바람직하게는 초산, 구연산, 유산 또는 산미를 갖는 식품(예: 오미자 등)을 가하여 20 내지 80℃, 바람직하게는 40 내지 70℃의 배양온도에서, 1시간 내지 2일간, 바람직하게는 3시간 내지 12시간 배양한다.
- <32> 이 배양물을 정제분리하기 위하여 후속적으로 이 배양물에 유기용매, 바람직하게는 부탄올, 메탄올, 에테르, 에틸아세테이트로부터 선택된 유기용매를 가하여 추출하는 용매 추출법을 통하여 추출하고 이 추출액을 염기로 중화시켜 화학적 산처리된 인삼 추출액을 제조한다.
- <33> 상기한 인삼 원재료는 인삼 및 인삼 가공품 및 부산물 등을 포함하며, 바람직하게는 수삼, 홍삼, 백삼, 미삼, 인삼잎, 인삼 엑기스 및 분말 형태의 인삼을 포함한다.
- <34> (3) 생물 전환 공정(Bioconversion Process)

- <35> 상기 미가공 인삼 추출액 또는 산처리된 인삼 추출액에 유산균 또는 장내 세균을 가하여 12시간 내지 4일, 바람직하게는 24시간 내지 3일 동안, 20 내지 50℃, 바람직하게는 25 내지 40℃의 배양온도에서 배양하여 생물학적인 균주처리된 인삼 추출액을 얻는다.
- <36> 이 과정을 통하여 원재료에 함유된 화합물인 진세노시드-Rb1, 진세노시드-Rb2, 진세노시드-Rc 등이 유산균 또는 유산균을 통하여 생물전환되어 최종산물인 화합물 K로 전환되거나, 원재료에 들어있는 화합물들이 산에 의해 1차 중간 대사산물인 진세노시드-Rg3로 전환하고 유산균 또는 장내 세균을 통하여 생물 전환되어 최종 대사산물인 진세노시드 Rh2로 전환된다.
- <37> 상기 산처리 배양액에 사용될 수 있는 유산균으로는 인삼 사포닌을 대사시켜 생물 전환체인 화합물 K 또는 진세노시드 Rh2을 생성시킬 수 있는 것이면 어느 것이나 가능하며, 바람직하게는 비피도박테리움(*Bifidobacterium*)속 유산균, 좀더 바람직하게는 비피도박테리움 인판티스(*Bifidobacterium infantis*), 비피도박테리움 비피둠(*B. bifidum*), 락토바실러스 락티스(*Lactobacillus lactis*), 클로스트리디움 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 비피도박테리움 K-103(경희대 약대 김동현 교수실, *Arch. Pharm. Res.*, 21, p54-61, 1988 참조), 비피도박테리움 K-506(경희대 약대 김동현 교수실, *Arch. Pharm. Res.*, 21, p 54-61, 1988) 비피도박테리움 K-513 (경희대 약대 김동현 교수실, *Arch. Pharm. Res.*, 21, p 54-61, 1988), 비피도박테리움 K-525 (경희대 약대 김동현 교수실, *Arch. Pharm. Res.*, 21, p54-61, 1988), 비피도박테리움 KK-1 (기탁번호: KCCM 10364), 비피도박테리움 KK-2 (기탁번호: KCCM 10365)의 유산균 중에서 선택된 하나 또는 이들의 혼합 균주를 사용할 수 있다.

- <38> 상기 산처리 배양액에 사용될 수 있는 장내 세균도 역시 인삼 사포닌을 대사시켜 생물 전환체인 화합물 K 또는 진세노시드 Rh2을 생성시킬 수 있는 것이면 어느 것이나 가능하며, 바람직하게는 박테리오이데스(Bacterioides)속, 푸소박테리움(Fusobacterium)속, 유박테리움(Eubacterium)속 장내 세균, 좀더 바람직하게는 박테리오이데스 JY-6 (경희대 약대 김동현 교수실, *Biol. Pharm. Bull.*, 23, pp1481-1485, 2000), 푸소박테리움 K-60 (경희대 약대 김동현 교수실, *Biol. Pharm. Bull.*, 23, pp1481-1485, 2000), 유박테리움 L-8(경희대 약대 김동현 교수실, *Biol. Pharm. Bull.*, 23, pp1481-1485, 2000)이 가능하다.
- <39> 상기 (1) 또는 (2)는 선택공정이고 (3) 단계는 필수적인 연속제조공정이며, 후속되는 하기 단계 (3) 내지 (5) 공정들은 최종 인삼제품의 형태에 따라 선택적으로 적용할 수 있다.
- <40> (4) 상기 (3)단계의 인삼 추출액을 그대로 동결 건조시키는 동결건조공정 (lyophilizing Process).
- <41> (5) 상기 (3) 단계의 인삼 추출액을 원심분리하고 상등액을 여과한 후 여액을 감압 농축하여 (3)단계의 생물전환 인삼추출물 내에 있는 불순물 및 침전물을 제거함과 동시에 농축한 후에 동결건조와 같은 건조공정을 거치는 농축공정(Thickening Process).
- <42> (6) 상기 (3) 단계의 인삼 추출액에 포함된 유효활성성분만을 추출하기 위해 적절한 용매로 추출하는 추출공정(Extraction Process)으로서, 적절한 용매로는 물, 메탄올 및 에탄올 등과 같은 저급알콜 용액을 사용할 수있고, 초임계 추출법과 같은 특수한 추출법을 사용하여 유효성분을 분리할 수도 있는데, 이어서 동결건조법에 의한 건조공정

(Drying Process) 및 가공음료나 가공식품을 제조하기 위한 교반과정(Agitation Process) 또는 희석과정(Dilution Process)을 추가로 수행할 수 있다.

- <43> 상기 제조과정 (1)과 (3)을 거쳐 얻어진 본 발명의 인삼 추출물은 (진세노시드 F2+compound K)/(진세노시드 Rc+Rd+Rb1+Rb2)의 비율이 0.5 이상 함유하고, 상기 제조과정 (2)와 (3)을 거쳐서 얻어진 발명의 인삼추출물은 (진세노시드 Rh2+ 진세노시드 Rg3)/(진세노시드 Rc+Rd+Rb1+Rb2)의 비율이 0.5 이상이면서 진세노시드 Rh2가 진세노시드 Rg3보다 많이 함유되어 있다.
- <44> 또한 본 발명은 상기한 제조과정으로 특수 가공처리된 인삼 추출물을 함유하는 시중에서 가공 가능한 모든 관련 인삼 제품을 제공한다.
- <45> 상기 가공 가능한 관련 인삼 제품에는 인삼 건조 분말, 액기스제, 앰플 제제, 차류, 정제 등을 포함한다.
- <46> 본 발명의 조성물의 뇌졸중 예방 및 치료에 대한 효과는 이미 시험법이 확립되어 있는 중뇌대동맥 폐색 모델을 이용하여 생체내 시험법에서 우고닌 및 그 유도체의 허혈성 뇌졸중을 억제하는 효과로써 확인할 수 있다.
- <47> 상기 방법은 나일론 필라멘트를 내경동맥 (internal carotid artery)으로 삽입하여 중뇌대동맥을 폐색시킨 후 120분 후에 다시 필라멘트를 제거함으로써 재관류시키는 방법으로 이 때 시료들을 경구로 투여하여 허혈성 뇌졸중에 대한 효과를 확인하는 것이다.
- <48> 본 발명의 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

- <49> 본 발명의 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- <50> 본 발명에 따른 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- <51> 본 발명의 추출물 또는 화합물의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1 내지 100mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한 그 추출물 또는 화합물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <52> 본 발명의 추출물 또는 화합물을 포함하는 조성물은 상기와 같은 제형으로 뇌세포 보호 및 뇌졸중의 예방 및 치료를 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 인삼 추출물 또는 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있다.
- <53> 본 발명의 인삼 추출물 및 화합물 자체는 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

- <54> 본 발명의 상기 추출물 또는 화합물은 뇌세포 보호 및 뇌졸중의 예방을 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물 또는 화합물의 양은 일반적으로 본 발명의 건강 식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 식품 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02~0.1g, 바람직하게는 0.3~1g의 비율로 가할 수 있다.
- <55> 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물에는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 ~ 20g, 바람직하게는 약 5 ~ 12g이다.
- <56> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨

가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<57> 본 발명은 다음의 실시예에 의거하여 더욱 상세히 설명되나, 본 발명이 이에 의해 제한되지는 않는다.

<58> 실시예 1. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예(1)

<59> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 500g을 세절하고 MeOH 5 L로 5회 추출한 후 이를 감압농축하여 25g을 얻었다. 이를 물 30ml에 녹인 후 BuOH 1500 ml로 4회 추출, 농축하여 인삼 BuOH 분획 10g을 얻었다. 여기에 비피도박테리움 KK-1 (기탁번호: KCCM 10364) 과 비피도박테리움 KK-2 (기탁번호: KCCM 10365) 각 10g(습식중량)을 넣어 37℃에서 72 시간 배양한 후 BuOH로 추출하고 농축하여 가공처리된 인삼 4g을 얻었다 (이하 GBM이라 함).

<60> 실시예 2. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예(2)

<61> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 1kg을 세절하고 MeOH 10 L로 5회 추출한 후 이를 감압농축하여 50g을 얻었다. 이를 물 50ml에 녹인 후 BuOH 3L로 4회 추출, 농축하여 가공처리된 인삼 20g을 얻었다 (이하 GB라 함).

<62> 실시예 3. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예 (3)

<63> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 10g을 세절하고 0.1% 유산을 함유한 물 1L를 가하고 60℃에서 5시간 배양한 후 이를 중화하여 BuOH 3L로 3회 추출하여 가공처리된 인삼 6.5g을 얻었다 (이하 GA라 함).

<64> 실시예 4. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예 (4)

<65> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 10g을 세절하고 0.1% 유산을 함유한 물 1000 ml를 가하고 60℃에서 5시간 배양한 후 이를 중화하여 BuOH 3000 ml로 3회 추출하여 가공 처리된 인삼 6.5g을 얻었다. 여기에 비피도박테리움 KK-1 (기탁번호: KCCM 10364)과 비피도박테리움 KK-2 (기탁번호: KCCM 10365) 각 5g(습식중량)을 넣어 37℃에서 72시간 배양한 후 BuOH로 추출하고 농축하여 가공처리된 인삼 3.5g을 얻었다 (이하 GAM이라 함).

<66> 실시예 5. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예 (5)

<67> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 1kg을 세절하고 MeOH 10L로 5회 추출한 후 이를 감압농축하여 50g을 얻었다. 이를 물 50 ml에 녹인 후 BuOH 3000 ml로 4회 추출, 농축하여 가공 처리된 인삼 20g을 얻었다. 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (컬럼사이즈 : 3.5 x 60 cm, 전개용매 : CHCl₃ : MeOH = 10: 1)를 이용하여 진세노사이드 Re, Rf, Rg1이 다량 함유된 분획 2g을 얻었다 (이하 GPT라 함).

<68> 실시예 6. 가공 처리 인삼 추출물의 제조예 (6)

<69> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 1kg을 세절하고 MeOH 10 L로 5회 추출한 후 이를 감압농축하여 50g을 얻었다. 이를 물 50ml에 녹인 후 BuOH 3000 ml로 4회 추출, 농축하여 가공처리된 인삼 20g을 얻었다. 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼사이즈 : 3.5 x 60 cm, 전개용매 : CHCl₃ : MeOH = 10: 1)를 이용하여 진세노사이드 Re, Rf, Rg1이 다량 함유된 분획 2g을 얻었다. 여기에 비피도박테리움 KK-1 (기탁번호: KCCM 10364)과 비피도박테리움 KK-2 (기탁번호: KCCM 10365)을 각 3g(습식중량)을 넣어 37℃에서 72시간 배양한 후 BuOH로 추출하고 농축하여 가공처리된 인삼 1.2g을 얻었다 (이하 GPTM이라 함).

<70> 실시예 7. 가공처리 인삼추출물의 제조예 (7)

<71> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 1kg을 세절하고 MeOH 10L로 5회 추출한 후 이를 감압농축하여 50g을 얻었다. 이를 물 50ml에 녹인 후 BuOH 3000ml로 4회 추출, 농축하여 가공처리된 인삼 20g을 얻었다. 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(칼럼사이즈 : 3.5 x 60 cm, 전개용매 : CHCl_3 : MeOH = 10: 1)를 이용하여 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd가 많이 포함된 분획 2.5g을 얻었다 (이하 GPD라 함).

<72> 실시예 8. 가공처리인삼추출물의 제조예 (8)

<73> 경동시장에서 구입한 6년근 백삼 1kg을 세절하고 MeOH 10L로 5회 추출한 후 이를 감압 농축하여 50g을 얻었다. 이를 물 50 ml에 녹인 후 BuOH 3000 ml로 4회 추출, 농축하여 가공 처리된 인삼 20g을 얻었다. 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼사이즈 : 3.5 x 60 cm, 전개용매 : CHCl_3 : MeOH = 10: 1)를 이용하여 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd가 다량 함유된 분획 2.5g을 얻었다. 여기에 비피도박테리움 KK-1 (기탁번호: KCCM 10364)과 비피도박테이움 KK-2 (기탁번호: KCCM 10365) 각 3g(습식중량)을 넣어 37℃에서 72시간 배양한 후 BuOH로 추출하고 농축하여 가공처리된 인삼 2g을 얻었다 (이하 GPDM이라 함).

<74> 비교예 1. 미가공처리 인삼 추출물의 제조

<75> 경동시장에서 구입한 5 년근 백삼 20g을 세절하여 5배 분량의 물을 넣고 60℃에서 5시간 추출하고 이를 농축기(Eyella, KN-IN Evaporator, 일본)로 감압농축하고 동결건조기(삼원냉열 SFDSM24L 모델, 한국)로 건조하여 미가공 처리 백삼 건조 분말 1g을 얻었다.

<76> 비교예 2. 산처리 인삼 추출물의 제조

<77> 경동시장에서 구입한 5 년근 백삼 20g을 세절하여 0.1% 유산을 함유한 물 2000ml를 가하고 60℃에서 5시간 배양하고 이 배양물에 5000ml의 부탄올을 가하여 추출하고 이를 농축기(Eyella, KN-IN Evaporator, 일본)로 농축하고 동결건조기(삼원냉열 SFDSM24L 모델, 한국)로 건조하여 산처리 백삼 건조 분말 1.5g을 얻었다.

<78> 실시예 6. 함량분석 실험

<79> 상기 비교예 1의 미가공 처리 백삼 건조 분말, 비교예 2의 산처리 백삼 건조 분말 및 실시예 1 및 실시예 5의 가공처리 백삼분말을 각 2g씩 취하여 메탄올 100ml씩 3회 추출하였다. 이 추출물을 감압 농축시킨 후에 이에 물 100ml를 넣어 현탁시키고, 에테르 100ml씩으로 3회 추출하고 감압 농축시켰다. 이어서 부탄올 100ml씩으로 3회 추출하고 감압 농축시킨 후에 수득된 농축물을 메탄올 100ml에 용해시켜 사포닌 분획 100mg을 얻고 이를 TLC(전개용매: $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} = 65:35:10$, 발색시약: 5% 황산 메탄올 용액, 탐지기(Detector): 시마즈사(Shimadzu) TLC Scanner CS-9301PC)로 분석하여 표 1과 같은 사포닌 함량 분석결과를 얻었다.

<80> 【표 1】

성분	사포닌 분획 중의 함량 (%)			
	비교예 1	비교예 2	실시예 1	실시예 4
진세노시드 Rb1	15.1	2.5	<1	<1
진세노시드 Rb2	8.2	2	<1	<1
진세노시드 Rc	9.5	1.8	<1	<1
진세노시드 Rd	3.5	<1	4.5	<1
진세노시드 Rg3	<1	25	<1	9
진세노시드 F2	<1	<1	5.5	0.9
화합물 K	<1	<1	16.1	1.5
진세노시드 Rh2	<1	<1	<1	14
프로토파낙사디올	<1	<1	<1	1.5

<81> 실험 결과, 인삼제품을 유산균만 처리한 경우에 진세노시드 F2와 화합물 K의 성분 함량이 급격하게 증가하고, 인삼제품에 산 및 유산균을 연속 처리한 경우에 가공처리된 인삼추출물 중의 진세노시드 Rg3, Rh2 및 프로토파낙사디올의 성분함량이 급격하게 증가함을 확인할 수 있었다.

<82> 실험예 1: 뇌세포 보호 및 뇌졸중에 대한 효과 실험

<83> 본 발명의 가공 처리된 인삼 추출물 및 이로부터 분리된 화합물들의 뇌세포 보호 및 뇌졸중에 대한 치료 효과를 비교예 1의 미가공 처리 백삼 건조 분말, 비교예 2의 산 처리 백삼 건조 분말들의 약리 효과와 상호 비교하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

<84> 랫트 (바이오제노믹스, 한국)를 이용한 뇌허혈 동물 모델에 재관류를 시작하기 약 5 분전에 1, 3, 10, 50 mg/kg으로 투여하고 재관류시킨 후, 최초 수술 후 약 24시간 후에 동물을 치사시켜 뇌를 적출하고, 뇌 매트릭스(brain matrix)를 이용하여 2 mm 두께로 뇌절편(brain slice)을 만든 다음, 2, 3, 5-트리페닐테트라졸리늄 클로리드 (TTC) 염색법을 이용하여 염색한 다음, 뇌경색 부위를 영상분석 시스템을 이용하여 분석하였다. 그 결과는 하기 도 1에 나타낸 바와 같이, 실시예 1의 특수가공처리 인삼 추출물, 실시예 3의 사포닌 분획물 및 실시예 7 및 8의 프로토파낙사디올 화합물들은 유의성있는 뇌세포 보호활성을 나타내었다. 양성 대조군으로 사용한 시그마알드리치사의 에브셀린 (Ebselen) 및 바이칼레인(baicalein) 보다도 그 효과가 우수함을 확인할 수 있었다(Cont 은 대조군 (비히클 투여군), GBM은 실시예 1, GB는 실시예 2, GA는 실시예 3, GAM는 실

시예 4, GPT는 실시예 5, GPTM는 실시예 6, GPD는 실시예 7, GPDM는 실시예 8의 시료를 나타내고, *는 대조군과 비교시 95% 유의수준에서 유의성이 있음을 의미함).

<85> 이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때, 인삼에 화학적 처리 및 생물학적 처리를 시키면 뇌세포 보호 및 뇌졸중에 예방 및 치료효과가 증강된 약효를 나타내므로 보다 우수한 품질의 인삼함유 의약품이나 건강보조식품을 제조하는데 효과적일 수 있다는 것이 확인되었다.

<86> 하기에 상기 약학조성물의 제제예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<87> 제제예 1. 산제의 제조

<88> 약전 제제총칙중 산제의 제조방법에 따라 1 포당 하기의 성분 함량으로 제조한다.

<89> 실시예 1 건조분말 50 mg

<90> 유당 100 mg

<91> 탈크 10 mg

<92> 제제예 2. 정제의 제조

<93> 약전 제제총칙중 정제의 제조방법에 따라 1정 당 하기의 성분 함량으로 제조한다.

<94> 실시예 1 건조분말 50 mg

<95> 옥수수전분 100 mg

<96> 유당 100 mg

<97> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<98> 제제예 3. 캡셀제의 제조

<99> 약전 제제총칙중 캡셀제의 제조방법에 따라 1 캡셀당 하기의 성분 함량으로 제조한다.

<100> 실시예 1 건조분말 50 mg

<101> 옥수수전분 100 mg

<102> 유당 100 mg

<103> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<104> 제제예 4. 주사제의 제조

<105> 약전 제제총칙중 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2ml) 하기의 성분 함량으로 제조한다.

<106> 실시예 1 건조분말 50 mg

<107> 주사용 멸균 증류수 적량

<108> pH 조절제 적량

<109> 제제예 5. 액제의 제조

<110> 약전 제제총칙중 액제의 제조방법에 따라 액제 100ml당 하기의 성분 함량으로 제조한다.

<111> 실시예 1 건조분말 50 mg

<112> 이성화당 10 g

<113> 만니톨 5 g

<114> 정제수 적량

<115> 또한 하기와 같은 방법으로 건강음료를 제조한다.

<116> 실시예 1 건조분말 0.1~80%, 설탕 5~10%, 구연산 0.05~0.3%, 카라멜 0.005~0.02%, 비타민C 0.1~1%의 첨가물을 혼합하고 여기에 79~94%의 정제수를 섞어서 시럽을 만들고, 상기 시럽을 85~98℃에서 20~180초간 살균하여 냉각수와 1 : 4의 비율로 혼합한 다음 탄산가스를 0.5~0.82%를 주입하여서 되는 특수 가공처리된 인삼 건조추출물을 함유하는 탄산음료를 제조하였다.

<117> 액상과당 (0.5%), 올리고당 (2%), 설탕 (2%), 식염 (0.5%), 물 (75%)와 같은 부재료와 실시예 1 건조분말을 균질하게 배합하여 순간살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 건강음료를 제조하였다.

<118> 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

【발명의 효과】

<119> 산처리와 같은 화학적 처리 및 유산균 또는 장내세균 배양과 같은 생물학적 처리공정을 거친 특수 가공 처리된 인삼 추출물을 포함하는 조성물은, 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료에 효과적이므로 관련질환의 예방 및 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

인삼 또는 그의 가공품을 산처리 및 가열공정을 하여 얻어진 추출물에 유산균 또는 장내 세균을 가하여 배양하여 수득되는 인삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 뇌세포 보호 및 뇌졸중 예방 및 치료를 위한 약학 조성물.

【청구항 2】

제1항에 있어서,

인삼 또는 그의 가공품이 백삼, 건삼, 홍삼, 인삼잎, 인삼 엑기스 및 인삼 분말로부터 이루어진 그룹으로부터 선택되는 조성물.

【청구항 3】

제1항에 있어서,

산처리시 산성분으로서 초산, 구연산, 유산 또는 산미를 갖는 식품을 사용하는 조성물.

【청구항 4】

제1항에 있어서,

유산균은 비피도박테리움(Bifidobacterium)속 또는 락토바실러스(Lactobacillus)속 유산균을 사용하는 조성물.

【청구항 5】

제1항에 있어서,

장내세균은 박테리오테스(Bacterioides)속 균주, 푸소박테리움(Fusobacterium)속 균주, 유박테리움(Eubacterium) 균주 및 이들의 혼합 균주로부터 이루어진 그룹에서 선택되는 조성물.

【청구항 6】

제1항에 있어서,

약제학적으로 사용되는 제제 형태가 산제, 과립제, 정제, 캡셀제, 액제, 주사제 중에서 선택된 어느 하나인 약학 조성물.

【청구항 7】

뇌세포 보호 및 뇌졸중에 대한 예방효과를 나타내는 제1항의 인삼 추출물 및 식품학적으로 허용가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 건강보조식품.

【청구항 8】

제7항에 있어서,

건강 음료형태인 건강 보조식품.

【도면】

